

NOUVELLE

La protéine VAP-A fil conducteur de la communication entre organelles

Mélody Subra, Bruno Mesmin

Université Côte d'Azur, Inserm, CNRS,
institut de pharmacologie moléculaire et cellulaire,
Valbonne, France.
mesmin@ipmc.cnrs.fr

► La communication, qui permet aux individus d'une espèce de recevoir ou de transmettre des informations, opère aussi à l'échelle subcellulaire. En effet, la cellule eucaryote est compartimentée en différentes organelles dotées de fonctions spécifiques, mais qui doivent constamment échanger des signaux et des métabolites. Certains mécanismes de « dialogue » entre organelles sont connus, comme le transport passif ou actif à travers le cytosol, ainsi que le trafic vésiculaire. Mais il existe aussi un système de communication directe impliquant des sites de contact membranaire, des régions spécialisées où

la distance intermembranaire est de 15 à 45 nm, permettant à deux organelles de former des contacts physiques sans pour autant fusionner [1]. De très nombreuses protéines contribuent alors au pontage entre les membranes de ces organelles, au transfert de petites molécules (lipides, ions calcium, etc) de l'une à l'autre, et au contrôle de ces opérations de transfert. Les sites de contact membranaire entre organelles sont ubiquitaires et sont impliqués dans diverses activités cellulaires : transport et métabolisme lipidique, signalisation calcique, dynamique des organelles, etc. Toutefois, ces sites sont hétéro-

gènes en termes de taille, de composition et de dynamique : ils ont notamment une durée de vie variable selon l'organelle engagée, allant de plusieurs dizaines de secondes à plusieurs heures, ce qui représente un véritable défi physique pour leurs effecteurs.

Adaptabilité et flexibilité pour faciliter la communication

Si la flexibilité d'un individu facilite ses liens sociaux, qu'en est-il pour les protéines à l'échelle cellulaire ? La protéine VAP-A (*VAMP-associated protein A*) est une protéine intégrale de la membrane du réticulum endoplasmique impliquée

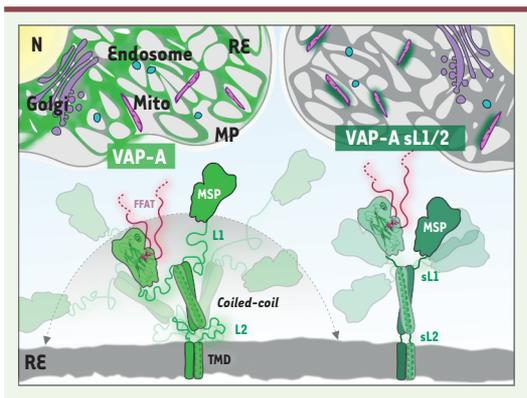


Figure 1. Modèle moléculaire de la protéine VAP-A endogène et d'une protéine VAP-A rigidifiée par mutation de ses deux domaines linker (VAP-A sL1/2). Les linkers flexibles L1 et L2 de la protéine VAP-A endogène lui permettent d'explorer un espace conformationnel plus large pour capturer des partenaires de liaison et adapter ainsi sa fonction à divers sites de contact membranaire entre organelles, y compris les sites de contact membranaire entre réticulum endoplasmique et réseau trans-golgien, qui sont éphémères, alors que le mutant rigidifié de la protéine, VAP-A sL1/2, a une distribution limitée aux sites de contact membranaire entre réticulum endoplasmique et mitochondrie, qui sont plus stables. N : Noyau ; Mito : mitochondrie ; RE : réticulum endoplasmique ; MP : membrane plasmique ; TMD : domaine trans-membranaire ; MSP : domaine *major sperm protein* ; FFAT : motif de séquence protéique contenant deux résidus phénylalanine (FF) entourés de résidus acides, aspartate (D) ou glutamate (E).

dans les divers sites de contact membranaire avec d'autres organelles. VAP-A possède trois domaines structurés : un domaine *major sperm protein* (MSP) N-terminal, un domaine *coiled-coil* central de dimérisation, et un domaine transmembranaire C-terminal. Par son domaine MSP, VAP-A interagit avec des centaines de protéines dont la séquence d'acides aminés contient un motif FFAT, constitué de deux résidus phénylalanine (FF) dans un segment riche en résidus acides [2] (Figure 1). Par exemple, VAP-A interagit avec la protéine de liaison à l'oxystérol (OSBP) aux sites de contact membranaire entre le réticulum endoplasmique et le réseau trans-golgien : le complexe moléculaire OSBP-VAP-A assure le pontage membranaire et l'échange cholestérol/phosphatidyl-

nositol-4-phosphate (PI4P) entre ces organelles [3]. Aux sites de contact membranaire entre réticulum endoplasmique et mitochondrie, VAP-A interagit avec VPS13A (*vacuolar protein sorting-associated protein 13A*) et PTIP51 (*protein tyrosine phosphatase-interacting protein 51*), deux protéines qui contribuent au transfert d'acide phosphatidique du réticulum endoplasmique vers les mitochondries [4, 5] : l'acide phosphatidique est un précurseur de la cardiolipine, un lipide crucial pour la dynamique mitochondriale. VAP-A joue donc le rôle d'un « opérateur central » répondant aux demandes de multiples interlocuteurs.

Bien que l'interaction entre les domaines MSP et FFAT ait été caractérisée, il n'existait pas encore de modèle pour rendre compte, aux divers sites de contact membranaire, de l'interaction de VAP-A avec des partenaires de liaison aussi hétérogènes. Toutefois, on savait que VAP-A est capable de s'orienter et de s'allonger sur des distances variables depuis la membrane [6]. Par ailleurs, des programmes de prédiction de structure secondaire indiquaient que cette protéine possède deux régions non structurées (*linkers* L1 et L2) flanquant son domaine *coiled-coil*. Aussi avons-nous fait l'hypothèse que VAP-A, grâce à la flexibilité de ses *linkers*, peut recruter différents partenaires de liaison dans différents contextes de sites de contact membranaire, ce dont une molécule rigide serait incapable. Ces caractéristiques moléculaires pourraient également avoir une incidence sur la dynamique et la fonction de VAP-A aux sites de contact membranaire.

Quand nous utilisons le téléphone pour joindre un ami, VAP-A, quant à elle, utilise ses *linkers* pour entrer en contact avec ses partenaires de liaison. Grâce à des analyses biochimiques et des simulations de dynamique moléculaire, nous avons découvert que les deux *linkers* de VAP-A sont des régions intrinsèquement désordonnées [7]. Ces régions, sans structure tridimensionnelle définie, contiennent un grand nombre d'acides aminés polaires et chargés (notamment, Glu, Lys, Gln, et Ser) ainsi que les acides aminés Pro et Gly, qui tolèrent le contact avec le solvant aqueux, et peu de résidus hydrophobes (tels que Ile, Phe, Trp et Tyr). Les régions intrinsèquement désordonnées, qui se comportent comme des fils flexibles nageant dans le cytosol, augmentent la liberté conformationnelle des protéines, ce qui favorise les mouvements interdomaines, ou l'interaction avec des partenaires de liaison éloignés ou mobiles. En remplaçant par mutagenèse les *linkers* L1 et L2 de VAP-A (constitués respectivement de 32 et de 24 résidus) par des *linkers* synthétiques plus courts (sL1 et sL2, de séquences GGS GGSGG et GSG), nous avons observé, par cryomicroscopie électronique, que cette forme mutée de la protéine, VAP-A sL1/2, purifiée et reconstituée dans des protéoliposomes, est beaucoup moins flexible que la protéine non mutée, bien qu'elle conserve sa capacité d'interagir avec des protéines contenant un motif FFAT [7].

Pour étudier l'impact des régions intrinsèquement désordonnées de VAP-A dans un contexte cellulaire, nous avons utilisé une lignée de cellules épithéliales pigmentaires de la rétine humaine (cellules RPE1) immortalisées par expression de la protéine hTERT (*human telomerase reverse transcriptase*). Cette lignée cellulaire, dont le caryotype est stable, est couramment utilisée pour étudier le trafic membranaire. Nous avons établi des lignées hTERT-RPE1 génétiquement dépourvues de VAP-A par la technique CRISPR/Cas9, afin de réaliser des expériences



de réexpression de VAP-A ou de VAP-A sL1/2 par transfection en évitant toute dimérisation avec la protéine VAP-A endogène. Nous avons constaté que la présence de la mutation sL1/2 dans la protéine VAP-A réexprimée entraîne son déplacement complet vers les sites de contact membranaire entre réticulum endoplasmique et mitochondrie, au détriment de ceux entre réticulum endoplasmique et réseau trans-golgien, ce qui perturbe l'activité de transfert de lipides de ses différents partenaires de liaison (tels que la protéine OSBP) à ces sites de contact. Étonnamment, nous montrons qu'aux sites de contact membranaire entre réticulum endoplasmique et mitochondrie, la réexpression de VAP-A sL1/2 mime les fonctions de la protéine endogène (non mutée) : elle restaure le métabolisme de la cardiolipine et la capacité de fusion mitochondriale (fonctions perdues en l'absence de VAP-A) grâce aux interactions de VAP-A sL1/2 avec PTPIP51 et VPS13A. Notons aussi qu'une autre construction rigide, obtenue en allongeant artificiellement le domaine *coiled-coil* de VAP-A, se comporte comme le mutant VAP-A sL1/2. En revanche, d'autres constructions flexibles dans lesquelles les *linkers* de VAP-A ont été remplacés par des peptides de même longueur, mais dont la séquence d'acides aminés est différente (séquence inversée, ou riche en résidus Gly et Ser), ont une localisation et une fonction similaires à celles de la protéine VAP-A endogène [7]. Cela montre que ce n'est pas la séquence d'acides aminés précise, mais bien la nature non structurée et flexible des régions intrinsèquement

désordonnées de la protéine VAP-A qui lui permet de s'engager fonctionnellement dans les divers sites de contact membranaire.

Maintenir le contact en toutes circonstances

Malgré la dynamique de leurs réseaux respectifs, le réticulum endoplasmique et les mitochondries établissent entre eux des sites de contact membranaire particulièrement stables dans le temps [9]. Au contraire, les sites de contact entre réticulum endoplasmique et réseau trans-golgien sont éphémères : ces deux organelles s'associent et se dissocient rapidement au gré du *turnover* de PI4P [10]. Grâce à ses *linkers* flexibles, la protéine VAP-A endogène peut donc opérer dans des sites de contact membranaire très dynamiques, comme ceux entre le réticulum endoplasmique et le réseau trans-golgien, alors qu'une protéine VAP-A dont les domaines *linkers* ont été artificiellement modifiés pour la rendre plus rigide se concentre préférentiellement dans les sites de contact membranaire plus stables, comme ceux entre le réticulum endoplasmique et les mitochondries. Il a d'ailleurs été possible de relocaliser cette protéine mutée aux sites de contact entre réticulum endoplasmique et réseau trans-golgien en stabilisant artificiellement ces derniers par surexpression d'une protéine de pontage membranaire [7].

Nous suggérons que les régions intrinsèquement désordonnées de VAP-A se comportent comme des ressorts moléculaires qui assurent sa flexibilité et lui permettent ainsi de s'adapter aux contraintes spécifiques des différents sites de contact membranaire, afin de

faciliter le contact avec ses partenaires de liaison [7]. De nombreuses autres protéines abondantes aux sites de contact membranaire ont également des régions prédites comme intrinsèquement désordonnées : il se pourrait que cette flexibilité conformationnelle soit une caractéristique générale des protéines impliquées dans l'organisation et la dynamique de ces sites. ♦

VAP-A: A thread to weave communication between organelles

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Prinz WA, Toulmay A, Balla T. The functional universe of membrane contact sites. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2020 ; 21 : 7-24.
2. Murphy SE, Levine TP. VAP, a versatile access point for the endoplasmic reticulum: Review and analysis of FFAT-like motifs in the VAPome. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* 2016 ; 1861 : 952-61.
3. Mesmin B, Bigay J, Moser von Filseck J, et al. A four-step cycle driven by PI4P hydrolysis directs sterol/PI4P exchange by the ER-Golgi tether OSBP. *Cell* 2013 ; 155 : 830-43.
4. Yeo HK, Park TH, Kim HY, et al. Phospholipid transfer function of PTPIP51 at mitochondria-associated ER membranes. *EMBO Rep* 2021 ; 22 : e51323.
5. Kumar N, Leonzino M, Hancock-Cerutti W, et al. VPS13A and VPS13C are lipid transport proteins differentially localized at ER contact sites. *J Cell Biol* 2018 ; 217 : 3625-39.
6. de la Mora E, Dezi M, Cicco AD, et al. Nanoscale architecture of a VAP-A-OSBP tethering complex at membrane contact sites. *Nat Commun* 2021 ; 12 : 3459.
7. Subra M, Dezi M, Bigay J, et al. VAP-A intrinsically disordered regions enable versatile tethering at membrane contact sites. *Dev Cell* 2023 ; 58 : 121-138.e9.
8. Wright PE, Dyson HJ. Intrinsically disordered proteins in cellular signalling and regulation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2015 ; 16 : 18-29.
9. Friedman JR, Webster BM, Mastroratte DN, et al. ER sliding dynamics and ER-mitochondrial contacts occur on acetylated microtubules. *J Cell Biol* 2010 ; 190 : 363-75.
10. Mesmin B, Bigay J, Polidori J, et al. Sterol transfer, PI4P consumption, and control of membrane lipid order by endogenous OSBP. *EMBO J* 2017 ; 36 : 3156-74.



Tarifs d'abonnement m/s - 2023

Abonnez-vous
à **médecine/sciences**

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès
des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement page 580
dans ce numéro de m/s

